# Dako Autostainer | Italian Handbook

# Manuale Dako Autostainer

# Dako Autostainer Manual

**Numero documento 0000636**

**Revisione A**

**Luglio 2006**

## Risorse dell'utente

Per informazioni aggíornate sui prodotti e sui servizi Dako, si prega di visitare il sito internet all'indirizzo:
http://www.dako.com

## Procedimento per l'installazione

Il personale Dako si occuperà dell'istallazione iniziale e delle impostazioni di partenza di tutte le componenti del sistema.

## Procedimento per spostare il sistema

Rivolgersi al Servizio Tecnico Dako, prima di spostare il sistema.

## Contenuto

Questo manuale contiene le informazioni di base sull'uso e sul funzionamento di Autostainer. Si presume che l'utente abbia già conseguito una certa formazione di base con l'apparecchio. Per le informazioni non contenute nel presente manuale, si prega di rivolgersi al nostro Servizio Tecnico o di consultare la Guida dell'utente di Autostainer. Questo manuale non contiene le istruzioni per l'installazione e per l'aggiornamento delle componenti hardware.

## Responsabilità

Questo manuale non sostituisce la formazione pratica dell'utente, fornita da Dako, Inc., né le istruzioni di livello più avanzato. Per l'assistenza, in caso di problemi di funzionamento dell'apparecchio, rivolgersi immediatamente al Servizio Tecnico Dako. L'istallazione di componenti hardware o software su Autostainer va effettuata solo ad opera del personale qualificato del Servizio Esterno Dako.

## Utilizzare i seguenti recapiti

**U.S.A.**
Dako, Inc
6392 Via Real
Carpinteria, CA 93013 USA
Tel  805-566-6655
Fax  805-566-6688
Servizio tecnico  800-424-0021
Servizio clienti 800-235-5763

**Altri Paesi**
Dako Denmark A/S
Produktionsvej 42
DK-2600 Glostrup Denmark
Tel +45 4485 9500
Fax +45 4485 9595

# Indice

# Sezione 1

## Avvertenze, precauzioni e limitazioni

Tenere chiuso il coperchio durante il funzionamento. Prestare attenzione: durante il funzionamento, il braccio meccanico può muoversi inaspettatamente. Non ostacolare in alcun modo il movimento del braccio meccanico dell'Autostainer.

Non versare liquidi nella vaschetta dell'Autostainer. Il sistema non è in grado di drenare grandi volumi di liquidi versati ad alta velocità. I reagenti pericolosi non utilizzati vanno eliminati secondo le disposizioni locali, statali e federali. Indossare un adeguato equipaggiamento protettivo personale, per evitare il contatto diretto.

Non adoperare sostanze candeggianti nell'Autostainer. Queste ultime possono reagire con altri prodotti chimici, provocando la formazione di esalazioni tossiche.

Non tentare di riparare l'Autostainer senza aver ricevuto specifiche istruzioni da un tecnico autorizzato Dako: ciò potrebbe invalidare la garanzia o il contratto d'assistenza. Non spostare il sistema Autostainer all'interno della propria struttura, senza essersi rivolti prima al rappresentante locale Dako, per ricevere importanti informazioni che potrebbero riguardare la validità della garanzia.

Prima di utilizzare nell'Autostainer soluzioni o reagenti di altri produttori, rivolgersi al rappresentante locale Dako. Alcuni solventi, acidi e altre soluzioni possono danneggiare le componenti interne dell'Autostainer e compromettere le prestazioni dell'apparecchio e la validità della garanzia.

Prima di iniziare un ciclo con il sistema, rimuovere il tappo dalle fiale di reagente.

Prima di iniziare un ciclo con il sistema, mettere i raccoglitori portavetrini nella posizione inferiore.

Prima di iniziare un ciclo, mettere i raccoglitori per le fiale nel loro alloggiamento.

Non usare la barra di scorrimento per selezionare i reagenti dalle liste corrispondenti, nell'impostazione di cicli successivi mentre l'Autostainer è in funzione.  L'uso della barra di scorrimento durante il funzionamento causa una pausa temporanea dell'Autostainer.

Non usare i simboli per programmare i reagenti o i protocolli: potrebbero risultarne errori di esecuzione.

Non eseguire più di un'applicazione software durante il funzionamento (compreso lettore CD e salvaschermi) Non installare componenti software o hardware di altri produttori: ciò potrebbe bloccare l'Autostainer e invalidare la garanzia.

Non stampare le etichette per i vetrini mentre l'Autostainer è in funzione.

L'immunoistochimica è un processo diagnostico a più passi (multi-step) che richiede una formazione specifica nella selezione appropriata di reagenti, selezione dei tessuti, fissazione, processazione, preparazione dei vetrini IHC e interpretazione dei risultati della colorazione.

La colorazione tissutale dipende dal trattamento e dalla processazione cui viene sottoposto il tessuto prima della colorazione. La fissazione, il congelamento, lo scongelamento, il lavaggio, l'asciugatura, il riscaldamento e la sezione condotti in modo non corretto, o la contaminazione con altri tessuti o fluidi, possono produrre artefatti, intrappolamento (trapping) anticorpale o risultati falsamente negativi. Risultati incompatibili possono essere dovuti a modifiche dei metodi di fissazione e di inclusione o ad irregolarità intrinseche al tessuto. Una colorazione a contrasto eccessiva o incompleta può compromettere la validità dei risultati.

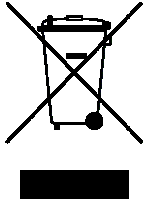
L'uso di fissativi vecchi o non tamponati, oppure l'esposizione dei tessuti a fonti di calore eccessivo (oltre i 60 °C) durante la processazione, può provocare una diminuzione della sensibilità della colorazione.

I sieri normali/non immuni provenienti dalla stessa fonte animale degli antisieri secondari usati nelle fasi di bloccaggio possono causare risultati falsamente negativi o falsamente positivi, a causa di autoanticorpi o di anticorpi naturali. Si possono osservare risultati falsamente positivi, dovuti a legame non immunologico dei reagenti sulle sezioni tessutali. In alcuni casi, l'applicazione di un reagente bloccante alternativo prima dell'incubazione con l'anticorpo primario può essere utile per ridurre la colorazione di fondo. Si raccomanda l'uso del reagente bloccante Dako Protein Block Serum-Free (codice n. X0909).

Reazioni negative inattese nelle neoplasie poco differenziate possono esser dovute a perdita o a marcata diminuzione dell'espressione antigenica, o a mutazioni nonsense nel gene o nei geni che codificano per l'antigene. Una colorazione positiva inattesa nei tumori può essere dovuta all'espressione di un antigene non espresso normalmente in cellule normali morfologicamente simili, oppure alla persistenza o all'acquisizione di un antigene in una neoplasia che sviluppa caratteristiche morfologiche ed immunoistochimiche associate ad un'altra linea cellulare (differenziazione divergente). La classificazione istopatologica delle neoplasie non è una scienza esatta e alcuni dati presenti in letteratura possono essere di controversa validità.

L'interpretazione clinica di ogni colorazione positiva o della sua assenza va accompagnata da studi morfologici e istologici, usando i controlli appropriati. Le valutazioni vanno effettuate alla luce della storia clinica del paziente e delle altre metodiche diagnostiche adoperate. Un patologo qualificato, che abbia la necessaria esperienza con anticorpi, reagenti e metodi impiegati, deve essere il responsabile per l'interpretazione del preparato sottoposto a colorazione. La colorazione va effettuata in un laboratorio qualificato ed autorizzato, sotto la direzione di un patologo responsabile dell'esame dei vetrini colorati e che garantisca l'adeguatezza dei controlli positivi e negativi.

I reagenti possono mostrare reazioni inattese nei tessuti non precedentemente sottoposti a test. A causa della variabilità dell'espressione antigenica nelle neoplasie o in altri tessuti patologici, la possibilità di reazioni inattese nei gruppi di tessuti sottoposti a test non può essere esclusa del tutto. Rivolgersi al rappresentante locale Dako con la

documentazione delle reazioni inattese. I tessuti di soggetti infettati con virus dell'epatite B e contenenti il relativo antigene di superficie (HbsAg) possono esibire una colorazione non specifica con la perossidasi di rafano.

Smaltimento corretto di questo prodotto – (conformemente alla direttiva 2002/96/CE sullo smaltimento delle apparecchiature elettriche ed elettroniche, applicabile nell'Unione Europea e nelle altre nazioni europee dotate di sistemi di raccolta differenziata).

Contattare un rappresentante Dako per lo smaltimento dell'apparecchiatura alla fine della sua vita utile. Non mischiare questo prodotto con altri rifiuti commerciali per lo smaltimento.

Sezione 2

# Generalità sul sistema

Autostainer è un sistema di processazione automatica dei vetrini, compatibile con i reagenti comunemente disponibili in commercio per la colorazione di sezioni tissutali incluse in paraffina e congelate, di citocentrifuga, di strisci cellulari e di aspirati con ago sottile. Il sistema è stato realizzato per automatizzare le procedure di colorazione manuale, impiegate di routine in immunoistochimica e in citochimica, consentendo il trasferimento di protocolli consolidati dal banco all'Autostainer.

La flessibile programmazione permette un numero illimitato di protocolli, comprendenti fino a 35 fasi (incluse le fasi di lavaggio e di soffio d'aria tra le incubazioni dei reagenti) e 64 reagenti differenti. Un ciclo di colorazione è in grado di processare da 1 a 48 vetrini da microscopio. I singoli vetrini possono essere programmati per ricevere reagenti diversi, di volume specificato, durante ogni singola fase del protocollo di colorazione, e i liquidi di rifiuto vengono raccolti in apposite taniche (pericolosi e non pericolosi), riducendo così i costi di smaltimento.

Autostainer è stato realizzato per gestire una varietà di dati. L'apparecchio è in grado di creare un rapporto dei dati relativi al paziente, al reagente ed all'operazione in tempo reale, può gestire l'uso del reagente e programmare la manutenzione dell'apparecchio stesso.

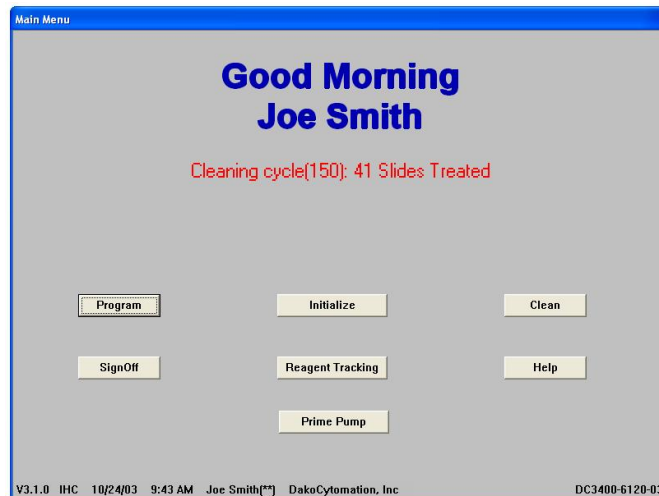
# Sezione 3

# Generalità sul software

## Schermata di accesso (Sign In Screen)

Lo schermata **Sign In** (accesso) appare facendo doppio clic sull'icona di Autostainer sul desktop. Dopo convalida del nome e della password, appare il **Main Menu** (menù principale).

## Menù principale (Main Menu)

I pulsanti del **Main Menu** (menù principale) permettono l'accesso alle altre schermate di Autostainer.
**Nota: Change Password** (cambia password) sostituisce il pulsante **Initialize** (inizializza) per gli utenti con accesso a sicurezza medio-bassa.

## Inizializza (Initialize)

La schermata **Initialize** (inizializza) è usata per stabilire ed aggiornare informazioni predefinite per il sistema. Queste comprendono le informazioni dell'istituto, il numero di serie di Autostainer, i nomi degli utenti, i medici che richiedono i test IHC, una biblioteca di tessuti che possono essere usati durante la colorazione, il volume predefinito e la banda per la distribuzione del reagente, il numero di vetrini consentito tra i cicli di pulizia di routine. Da questa schermata, è possibile anche configurare il formato delle etichette dei vetrini e dei reagenti, i formati di stampa definiti dall'utente per la **Programming Grid** (griglia programmazione) e per gli IHC Reports (rapporti IHC).

### Inizializzazione stampa etichette (Label Printing Initialization)

I pulsanti **Slide Labels** (etichette vetrini) e **Reagent Labels** (etichette reagenti) vengono visualizzati sulla schermata **Initialize** (inizializza) e sono usati per l'accesso alle schermate **Design Label** (crea etichetta), per configurare ed aggiustare la stampa delle etichette di vetrini e di reagenti.

### Etichette vetrini (Slide Labels)

Il pulsante **Slide Labels** (etichette vetrini) viene visualizzato sulla schermata **Initialize** (inizializza) ed è usato per l'accesso alle schermate **Design Slide Label** (crea etichetta vetrino), per configurare e regolare la stampa delle etichette dei vetrini. Le etichette dei vetrini vengono stampate mediante il pulsante **Print** (stampa), sulla **Programming Grid**. (griglia di programmazione). Non stampare le etichette mentre l'Autostainer è in funzione.

1. Scegliere il pulsante **Slide Labels** (etichette vetrini).

   **Nota:** Se Slide ID (ID vetrino), Doctor (medico), o Tissue (tessuto) sono selezionati per stampare l'etichetta, questi elementi vanno selezionati mediante il pulsante

**Options** (opzioni), sulla schermata **Initialize** (inizializza). Se questi elementi della **Programming Grid** (griglia di programmazione) non vengono selezionati usando il pulsante **Options** (opzioni) sulla schermata **Initialize** (inizializza), questi campi non saranno presenti sulla schermata **Slide Information** (informazioni vetrini).

2. Scegliere l'opzione desiderata per ogni campo.

   **Nota:** Le informazioni statiche, quali il nome dell'istituto, possono essere immesse nel campo. Quest'informazione è riportata su tutte le etichette. Per immettere informazioni statiche, evidenziare il testo nel campo desiderato e digitare il testo nella casella di testo. Premere ENTER (INVIO).

3. Scegliere il numero di caratteri per ogni riga (10, 12, 14, o 16), selezionando un numero dall'elenco **Length** (lunghezza) (selezionando 10 caratteri, verrà visualizzato il testo in grassetto).

### Etichette reagente (Reagent Labels)

Attraverso la schermata **Initialize** (inizializza), si accede al pulsante **Reagent Labels** (etichette reagente).

1. Scegliere il pulsante **Reagent Labels** (etichette reagente). Reagent Name 1/2 (nome reagente 1/2) e Reagent Name 2/2 (nome reagente 2/2) sono usati insieme su righe adiacenti, per dividere un nome di reagente troppo lungo in 2 righe separate. Reagent Name 1/2 conterrà la prima metà del nome reagente, mentre Reagent Name 2/2 ne conterrà la seconda. La lunghezza di ogni riga viene impostata usando lo strumento **Length** (lunghezza).
2. Scegliere l'opzione desiderata per ogni campo.

   **Nota:** Le informazioni statiche, quali il nome dell'istituto, possono essere immesse nel campo. Quest'informazione è riportata su tutte le etichette. Per immettere informazioni statiche, evidenziare il testo nel campo desiderato e digitare il testo nella casella di testo. Premere ENTER (INVIO).

3. Scegliere il numero di caratteri per ogni riga (10, 12, 14, o 16), selezionando un numero dall'elenco **Length** (lunghezza) (selezionando 10 caratteri, verrà visualizzato il testo in grassetto).

### Regolazione etichetta (Label Adjustment)

1. Per controllare la posizione del testo sull'etichetta del vetrino o del reagente, scegliere il pulsante **Adjust Label** (regola etichetta) dalle schermate **Design Slide Label** (crea etichetta vetrino) o **Design Reagent Label** (crea etichetta reagente).
2. Scegliere il pulsante **Test Print** (prova di stampa). La stampante etichette crea un'etichetta.

**Nota:** La stampante esegue automaticamente la regolazione orizzontale. Se il testo non inizia lungo il margine sinistro dell'etichetta, è possibile che la stampante debba esser reimpostata. Spegnere la stampante. Tenere premuto il pulsante verde di avanzamento etichette, in alto sulla stampante, e accendere di nuovo la stampante. Quando il LED inizia a lampeggiare in rosso, rilasciare il pulsante di avanzamento etichette e premere due volte il pulsante velocemente. Le etichette si portano in avanti e la stampante è pronta per stampare. Rilasciare il pulsante di avanzamento. Per far avanzare un'etichetta, premere e rilasciare di nuovo il pulsante di avanzamento. Eseguire una prova di stampa.

## Porta di comunicazione (Communication Port)

La porta di comunicazione della stampante viene assegnata usando la casella **Port** (porta) sulla schermata **Design Slide Label** (crea etichetta vetrino). Il numero visualizzato nella casella deve corrispondere alla porta seriale di comunicazione, cui è connessa la stampante (es. 1 per A e 2 per B).

## Selezione stampante (Printer Selection)

Per selezionare il tipo corretto di stampante Seymour, sulla schermata **Design Slide Label** (crea etichetta vetrino) , scorrere l'elenco stampanti mediante le frecce della tastiera o la barra di scorrimento.

**Nota:** Selezionando una stampante non corretta, comparirà sullo schermo un messaggio di errore quando le etichette dei vetrini o dei reagenti vengono stampate. Per trovare il numero del modello della vostra Seymour Slide Label Printer (stampante di etichette Seymour) cercare sul coperchio della stampante (es. TPL2642). Gli ultimi quattro caratteri rappresentano il numero del modello (es. 2642).

## Schermata opzioni (The Options Screen)

Il pulsante **Options** (opzioni) viene visualizzato sulla schermata **Initialize** (inizializza). La schermata **Options** (opzioni) permette di selezionare opzioni di formato per la **Programming Grid** (griglia di programmazione) e per il **IHC Report**, oltre ad opzioni per il lavaggio (rinsing) e per le mappe disposizione vetrini (slide layout maps).

## Griglia programmazione formato (Format Program Grid)

Questa funzione permette di scegliere opzioni di formato per la **Programming Grid** (griglia di programmazione).
Gli elementi selezionati vengono visualizzati sulla schermata **Slide Info** (info vetrini) e sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione).

**Nota:** Selezionando l'elemento Comment (commento), si crea una colonna per l'immissione dei dati sulla stampa della **Programming Grid** (griglia di programmazione). Questa colonna non viene visualizzata sulla schermata **Programming Grid** (griglia di programmazione).

## Rapporto IHC (IHC Report)

Le opzioni di stampa per il IHC Report comprendono:

- Un ID vetrino (slide ID)/pagina - stampa ogni Slide ID (ID vetrino) su una pagina separata
- Un caso (case)/pagina – stampa un case (caso) per pagina
- Senza interruzione pagina (No page break)– stampa in continuo tutti i vetrini per un ciclo

## Opzioni personalizzate (Custom Options)

Questa funzione permette di scegliere opzioni di lavaggio e di soffio d'aria, e di modificare la **Slide Layout Map** (mappa disposizione vetrini). Per attivare un'opzione, fare clic sulla casella di controllo corrispondente.

**Lavaggio ad acqua per inizio ritardato (Delayed Start Water Rinse):**
Per un inizio ritardato, è possibile eseguire dei lavaggi a vuoto con acqua o con soluzione tampone. Se quest'opzione non è selezionata, verrà impiegata una soluzione tampone per il lavaggio a vuoto. **Nota:** Quest'opzione non può essere selezionata, quando è selezionata l'opzione **No Pre-Rinse** (senza pre-lavaggio).

**Aggiungi lavaggio alle fasi del protocollo (Add Rinse to Protocol Steps):**
Quando si crea un nuovo modello protocollo, può essere aggiunto automaticamente un lavaggio alla fine di ogni fase. Scegliere l'opzione **Add Rinse to Protocol Steps** (Aggiungi lavaggio alle fasi del protocollo), per aggiungere automaticamente lavaggi con soluzione tamponata. Se quest'opzione non è selezionata, la fase di lavaggio deve essere aggiunta manualmente.

**Senza pre-lavaggio (No Pre-Rinse):**
Quando si crea un nuovo modello protocollo, la fase di pre-lavaggio predefinita può essere rimossa. Se quest'opzione non è selezionata, il modello protocollo comprenderà una fase di lavaggio con soluzione tampone.

**Soffio d'aria a tempo flessibile (Flex-time Blow):**
Quest'opzione permette all'Autostainer di eseguire, quando sia richiesto, un soffio d'aria invece che un lavaggio, senza interrompere altre funzioni.

**Mostra solo vetrini programmati (Show Only Programmed Slides):**
Quest'opzione visualizza solo i vetrini programmati sulla **Slide Layout Map** (mappa disposizione vetrini).

### Volume del reagente (Reagent Volume) e Banda distribuzione predefiniti (Drop Zone Default):

Dalla schermata **Initialize** (inizializza)**,** è possibile impostare il volume predefinito di reagente, facendo clic sul rombo in rilievo accanto al volume appropriato. Selezionare la banda di distribuzione del reagente, facendo clic sull'area desiderata del vetrino raffigurato. Mantenendo premuto il tasto CTRL e facendo clic sulle aree di distribuzione, è possibile selezionare bande multiple di distribuzione.

## Pulizia (Clean)

La schermata **Clean** (pulizia) permette di iniziare un ciclo di pulizia. Questa schermata fornisce un rapporto di stato sul numero di vetrini processati dall'ultimo ciclo di pulizia e sul numero totale dei cicli. Inoltre, la schermata crea un diario di pulizia.

Si raccomanda di eseguire un ciclo di pulizia, dopo che 150 vetrini sono stati processati o dopo una settimana, a seconda di cosa si verifichi prima. Una volta che l'apparecchio abbia processato 150 vetrini, un messaggio avverte l'utente di procedere alla pulizia dell'apparecchio stesso. Il software consente di processare fino a 200 vetrini tra un ciclo di pulizia e l'altro, per consentire una maggiore flessibilità del flusso di lavoro. Se sono stati processati più di 200 vetrini, il pulsante **Program** (programma) scompare ed il sistema non consente ulteriori processazioni, fino all'avvenuta esecuzione del ciclo di lavaggio.

## Uscita (Sign Off) e Aiuto (Help)

**Sign Off** (uscita) permette di uscire dal programma e **Help** (aiuto) visualizza informazioni riguardanti le caratteristiche del **Main Menu** (menù principale).

## Gestione reagenti (Reagent Tracking)

La schermata **Reagent Tracking** (gestione reagenti) permette di monitorare il volume totale di ogni reagente usato dall'apparecchio e di creare rapporti su tutti i reagenti o solo su alcuni di essi.

## Priming pompa (Prime Pump)

La schermata **Prime Pump** (priming pompa) è usata per irrigare le tubature d'immissione con soluzione tampone o con acqua deionizzata, senza iniziare un ciclo reale. Irrigando di frequente le tubature dell'apparecchio, si mantiene il buon funzionamento di Autostainer. Dako raccomanda di effettuare il priming delle pompe una volta la settimana.

# Griglia di programmazione (Programming Grid) - Generalità

La Programming Grid (griglia di programmazione) è la schermata principale per definire informazioni sui vetrini, sugli anticorpi primari, sui reagenti e sui protocolli di colorazione.

**Barra di menù**
Slides (vetrini) – immettere il numero dei vetrini per un ciclo
File – informazioni generali, quali aprire, salvare e stampare cicli di vetrini
Edit lists (modifica elenchi) – stabilisce elenchi di reagenti per la programmazione di un protocollo di colorazione
Copy (copia) e Auto – elementi usati durante la programmazione

**Griglia programmazione**
Le righe rappresentano i singoli vetrini, compresi la completa identificazione e tutti i reagenti applicati. La griglia può ospitare 48 vetrini per ciclo di colorazione.

Versione software

Data/Ora

Nome utente
** sicurezza elevata
* sicurezza media
sicurezza bassa

Nome istituto

Numero serie

**Intestazione griglia**
Elenca le fasi e dispensa i volumi del modello di protocollo selezionato per il ciclo di colorazione corrente. Ogni colonna rappresenta una fase del modello di protocollo.

**Pulsanti di comando:**

**Slide Info** (informazioni vetrini) – immette o modifica informazioni individuali sui vetrini.
**Protocol Template** (modello di protocollo) – seleziona o crea un modello da applicare al ciclo di colorazione corrente.
**Next** (avanti) – visualizza la mappa disposizione vetrini: schermata Program Slides.
**Print** (stampa) – stampa etichette dei vetrini e dei reagenti, griglia principale, rapporto IHC, elenco reagenti o diario ciclo.
**Exit** (esci) – riconduce al menù principale senza salvare.
**Help** (aiuto) – informazioni sulle caratteristiche della griglia.

Sezione 4

# Immissione delle informazioni sui vetrini

I vetrini possono essere programmati dalla **Programming Grid** (griglia di programmazione) mediante **Slides** (vetrini) sulla barra di menù, per una programmazione rapida del numero totale dei vetrini, oppure mediante il pulsante **Slide Info** (info vetrini), per immettere informazioni identificative specifiche sul vetrino.

## Aggiunta di vetrini (Adding Slides)

L'opzione **Slides** (vetrini) accelera la programmazione, riducendo la quantità di informazioni richieste per programmare un ciclo di colorazione.

1. Selezionare Slides (vetrini) sulla barra di menù. Questa funzione è usata per aggirare la schermata Slide Information (informazioni vetrini) nella programmazione di un ciclo di colorazione.

2. Immettere il numero di vetrini desiderato nella casella di testo o usare la barra di scorrimento per selezionare il numero di vetrini desiderato e fare clic su **OK**.

   **Nota:** Una volta che un ciclo è stato impostato usando questa funzione, le informazioni su slide (vetrino), tissue (tessuto), o doctor (medico) non possono essere aggiunte al ciclo. Slide Identification (identificazione vetrino), Case # (numero caso), Block ID (ID blocco), Tissue, o Doctor Name (nome medico) non saranno associati/visualizzati nella Programming Grid (griglia di programmazione), quando viene usata la funzione Slides (vetrini). Se viene selezionato il pulsante Slide Info (info vetrini), invece che la schermata Slide Information (informazioni vetrini) appare la casella di testo Slide Count (conta vetrini).

## Pulsante Info vetrini (The Slide Info Button)

Il pulsante **Slide Info** (info vetrini) consente l'immissione di informazioni specifiche relative ai singoli vetrini. I campi visualizzati vengono determinati durante l'inizializzazione.

1. Scegliere il pulsante **Program** (programma) sulla schermata **Main Menu** (menù principale).

2. Scegliere il pulsante **Slide Info** (info vetrini) sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione) ed immettere le informazioni relative ai vetrini.

**Nota:** È richiesta almeno un'immissione per proseguire da un campo al successivo. Ogni campo richiede almeno un carattere. Prima di spostarsi al campo successivo, digitare l'informazione specificata o premere la BARRA SPAZIATRICE. Il campo **Slide/case** (Vetrino/caso) richiede l'immissione del numero effettivo dei vetrini.

3. Scegliere il pulsante **Finish Entry** (fine immissione) o premere INVIO quando il pulsante **Finish Entry** (fine immissione) è evidenziato, per portare a termine il processo d'immissione identificativa del vetrino. A questo punto, appare la **Programming Grid** (griglia di programmazione).

## Eliminazione vetrini (Deleting Slides)

### Eliminazione dei vetrini con la funzione Vetrini (Slides Function)

Usando l'opzione **Slides** (vetrini) sulla barra di menù per la programmazione di un ciclo di colorazione, è possibile eliminare un vetrino se c'è almeno una fila completamente vuota (non programmata). Selezionare l'elemento del menù **Slides** (vetrini), regolare il numero dei vetrini e fare clic su **OK**.

**Nota:** Se tutte le file sono programmate, il vetrino deve essere eliminato dalla **Programming Grid** (griglia di programmazione) (vedere "Eliminazione di uno specifico vetrino", più avanti in questa sezione).

### Eliminazione delle informazioni identificative di vetrino (Deleting Slide ID Information) Uso del pulsante Slide Info (info vetrini)

**Deleting Slide Identification** (Eliminazione identificazione vetrino) – elimina tutti i vetrini associati con l'identificativo vetrino selezionato.
**Deleting a Case Number** (Eliminazione di un numero di caso) – elimina tutti i vetrini associati con il caso d'identificazione vetrino selezionato.
**Deleting a Block ID** (Eliminazione di un ID di blocco) – elimina tutti gli ID di blocco associati con il numero di caso selezionato.

1. Scegliere il pulsante **Slide Info** (info vetrini) sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione).
2. Premere il tasto FRECCIA GIÙ quando l'identificazione del vetrino desiderato è evidenziata nel campo **Slide ID** (ID vetrino) e premere INVIO. Il cursore si sposta nel campo **Case #** (caso n.). Se necessario, selezionare altri criteri
3. Scegliere il pulsante **Delete** (elimina). Una finestra di dialogo chiede se si voglia eliminare l'identificativo del vetrino selezionato.
4. Scegliere il pulsante **Yes** (sì). Scegliere il pulsante **Finish Entry** (fine immissione) per salvare le modifiche.

**Eliminazione di un vetrino specifico**
Questo metodo elimina un vetrino alla volta.

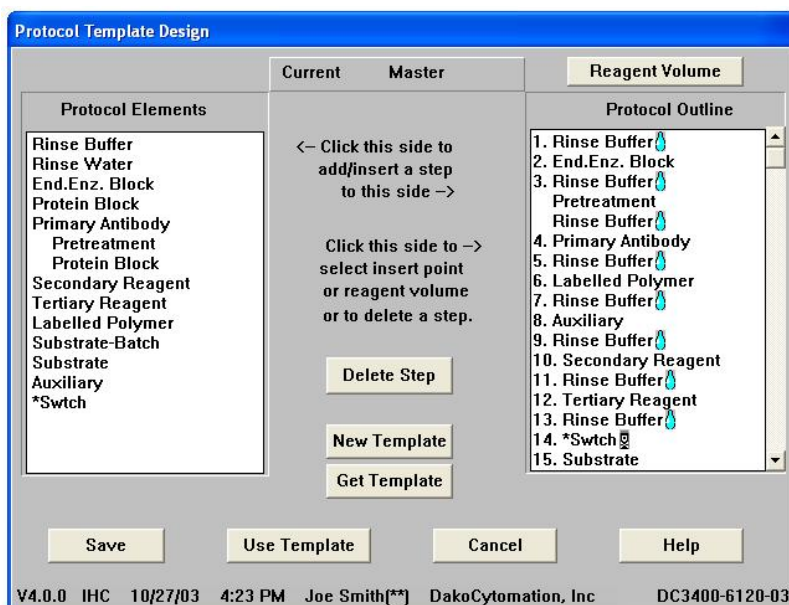
1. Sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione) fare clic con il tasto sinistro sul numero di vetrino sulla fila che localizza il vetrino. Una finestra di dialogo chiede se si voglia eliminare il vetrino selezionato.
2. Scegliere il pulsante **Yes** (sì) per eliminare il vetrino selezionato dal programma attuale.
   **Nota:** Se le etichette del vetrino sono state stampate, i nomi dei reagenti sono sostituite da riquadri vuoti nella fila dei vetrini eliminati.

## Cambio di posizione dei vetrini sulla Programming Grid (griglia di programmazione)

1. Sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione) fare clic con il tasto destro sul numero di vetrino sulla fila che localizza il vetrino.
2. Spostare il puntatore del mouse nella posizione in cui si desidera inserire il vetrino e fare clic con il tasto sinistro. L'informazione del vetrino è ora inserita nella nuova posizione.

# Sezione 5

# Creazione di un protocollo

I modelli di protocollo (Protocol templates) consentono di immettere la serie di fasi richieste per la colorazione di un vetrino e di salvare il protocollo per l'uso futuro. Un basso livello di sicurezza non permette la creazione o la modifica dei modelli di protocollo.

## Elementi standard del protocollo (Standard Protocol Elements)

Gli elementi del protocollo sono categorie di reagenti, usati per creare il profilo del protocollo nella schermata **Protocol Template Design** (Disegno modelli del protocollo). I reagenti possono essere aggiunti, eliminati e modificati, scegliendo le categorie di elementi del protocollo dall'elemento del menù **Edit Lists** (modifica elenchi) sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione).

Blocco enzimi endogeni (Endogenous Enzyme Block)
Blocco proteine (Protein Block)
Anticorpo primario (Primary Antibody)
Pretrattamento (Pretreatment)
Reagente secondario (Secondary Reagent) (es. anticorpi secondari biotinilati o legame)
Reagente terziario (Tertiary Reagent) (es. streptavidina marcata con enzima o marcatore)
Polimero marcato (Labeled Polymer) (es. usato nei sistemi di visualizzazione EnVision)
Lotto substrato (Substrate-Batch)
Substrato (Substrate)
Ausiliario (Auxiliary) (es. controcolorazione)

## Elementi addizionali del protocollo (Additional Protocol Elements)

### Lavaggio con tampone (Rinse Buffer)

Questa fase consiste in un ciclo di lavaggio in tampone e di soffio d'aria e va programmata tra le fasi del modello di protocollo. Ogni lavaggio con tampone viene raffigurato sulla griglia di programmazione come una gocciolina blu, con un'icona gocciolina in ogni fila programmata. L'icona del tampone appare sulla stampa della **Programming Grid** (griglia di programmazione) come una gocciolina piena.

### Lavaggio con acqua (Rinse Water)

Questa fase consiste in un ciclo di lavaggio con acqua e di soffio d'aria. Ogni lavaggio con acqua viene raffigurato sulla griglia di programmazione come una gocciolina bianca, con un'icona gocciolina in ogni fila programmata. L'icona dell'acqua appare sulla stampa della **Programming Grid** (griglia di programmazione) come una gocciolina bianca.

### Sostituzione del ciclo di lavaggio standard (Standard Rinse Replacement)

Il ciclo di lavaggio standard può essere sostituito da una fase di solo soffio d'aria (il reagente viene soffiato via dal vetrino, senza applicazione di tampone), facendo clic con il tasto destro sull'icona della gocciolina nella griglia di programmazione. L'icona della gocciolina viene sostituita da un vortice bianco.

### Lotto substrato (Substrate-Batch)

Questa fase suddivide il ciclo di colorazione in due operazioni distinte. La prima comprende tutte le fasi precedenti all'applicazione del substrato, mentre la seconda raggruppa tutte le fasi che iniziano con l'applicazione del substrato. Questa funzione permette di usare substrati instabili che necessitano di essere preparati immediatamente prima dell'applicazione. L'Autostainer si arresta dopo che le fasi della prima operazione (senza substrato) sono concluse. Un segnale acustico avverte che va caricato il substrato e lo schermo ne visualizza la destinazione (di solito, in posizione D8 del raccoglitore per reagenti **a**).

**Nota:** La fase del lotto substrato può essere usata solo quando inserita in un modello di protocollo (Protocol Template).

### Smistamento (Switch)

Questa fase programma lo smistamento dei rifiuti da un contenitore all'altro, per separare i rifiuti pericolosi da quelli non pericolosi. La fase Switch viene visualizzata sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione) con l'icona del teschio, in ogni fila programmata. La fase Switch può essere usata più volte in ogni Protocol Template (modello di protocollo). Quando si programmano fasi di smistamento successive, l'icona del teschio si alterna ad un'icona di fiori, per indicare il passaggio da rifiuti pericolosi a rifiuti non pericolosi.

**Nota:** La fase di smistamento deve essere preceduta da una fase di lavaggio nel modello di protocollo. La prima fase di smistamento in ogni modello di protocollo è uno smistamento verso rifiuti pericolosi.

## Creazione e modifica di un modello di protocollo (Protocol Template)

**Nota:** I nomi dei modelli possono contenere fino a otto caratteri alfanumerici, senza simboli o spazi vuoti.

1. Scegliere il pulsante **Protocol Template** (modello di protocollo) sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione). Appare la schermata **Protocol Template Design** (Disegno modelli del protocollo), con il modello di protocollo predefinito visualizzato nella colonna **Protocol Outline** (profilo del protocollo).
2. Scegliere il pulsante **New Template** (nuovo modello). Il modello di protocollo predefinito viene sostituito dalla prima fase predefinita (tampone di lavaggio) del nuovo modello.

   **Nota:** Se nella schermata **Options** (opzioni) viene selezionato **No Pre-rinse** (senza pre-lavaggio), il primo tampone di lavaggio non viene visualizzato (vedere “Inizializza”, Sezione 3).

3. Creare il nuovo modello di protocollo dall’elenco **Protocol Elements** (elementi del protocollo). Fare clic su un reagente dell’elenco; l’elemento viene copiato nell’elenco **Protocol Outline** (profilo del protocollo) e gli viene attribuito un numero progressivo.

   **Nota:** Se sulla schermata **Options** (opzioni) viene selezionato **Add Rinse to Protocol Steps** (aggiungi lavaggio alle fasi di protocollo), i lavaggi vengono aggiunti automaticamente dopo ogni fase, tranne che dopo una fase substrato.

4. Per eliminare una fase, selezionarla nell’elenco **Protocol Outline** (profilo del protocollo). Il nome viene delineato. Scegliere il pulsante **Delete Step** (elimina fase).
5. Ulteriori fasi possono essere inserite nel **Protocol Outline** (profilo del protocollo), evidenziando una fase e facendo clic sulla fase desiderata da **Protocol Elements** (elementi del protocollo). La fase selezionata viene inserita al di sopra dell’area evidenziata nel **Protocol Outline** (profilo del protocollo).

   **Nota:** L’Autostainer può ospitare modelli di protocollo contenenti fino a 35 fasi (comprese le fasi di lavaggio tra le incubazioni di reagenti).

6. I modelli di protocollo possono essere usati salvando o non salvando le modifiche. Per salvare un nuovo modello, scegliere il pulsante **Save** (salva) sulla schermata **Protocol Template Design** (Disegno modelli del protocollo). La finestra **Save Template** (salva modello) appare con il cursore nella casella **File Name** (nome del file).

## Eliminazione di un modello di protocollo (Protocol Template)

1. Scegliere il pulsante **Protocol Template** (modello di protocollo) sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione).
2. Scegliere il pulsante **Get Template** (cerca modello) e fare clic sul nome del file del modello desiderato.
3. Fare clic sul pulsante **Delete Template** (elimina modello). Un messaggio chiede se si voglia eliminare il modello di protocollo selezionato. Scegliere il pulsante **Yes** (sì).

**Nota:** Quando il modello predefinito viene eliminato, va selezionato un nuovo modello dalla finestra **Get Template** (cerca modello) e salvato come modello predefinito.

## Uso di un nuovo modello di protocollo (Protocol Template) senza salvare

1. Dopo aver creato o modificato un modello di protocollo, fare clic sul pulsante **Use Template** (usa modello) sulla schermata **Protocol Template Design** (Disegno modelli del protocollo). Una finestra di dialogo chiede “Salvare su disco?” (“Save on disk now?”).
2. Scegliere **No** (Non); apparirà la **Programming Grid** (griglia di programmazione) con il nuovo modello nella riga d’intestazione.

   **Nota:** Se un ciclo di colorazione è già stato programmato e il nuovo modello di protocollo omette le fasi precedentemente programmate, viene visualizzato un messaggio d’avviso in cui è riportato che le fasi programmate saranno tralasciate quando si applica il nuovo modello di protocollo.

## Uso di un modello di protocollo salvato (Protocol Template)

1. Scegliere il pulsante **Protocol Template** (modello di protocollo) sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione).
2. Scegliere il pulsante **Get Template** (cerca modello), selezionare il modello dall’elenco e fare clic su **OK**.
3. Fare clic sul pulsante **Use Template** (usa modello). Apparirà la **Programming Grid** (griglia di programmazione) con il modello di protocollo selezionato, visualizzato nell’intestazione della griglia.

## Uso di un modello di protocollo salvato (Protocol Template) per un programma Auto specifico (Auto Program)

Programmazione Auto è una funzione che rende più efficiente la programmazione dei vetrini (vedere “Programmazione di un ciclo di colorazione”, Sezione 6).

1. Scegliere il pulsante **Protocol Template** (modello di protocollo) sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione).
2. Scegliere il pulsante **Get Template** (cerca modello).
3. Selezionare la casella di controllo **Auto File** (file Auto).
4. Scegliere l’Auto Program (programma Auto) desiderato, facendo clic su di esso e scegliendo **OK**.
5. Fare clic sul pulsante **Use Template** (usa modello) sulla schermata **Protocol Template Design** (Disegno modelli del protocollo). Apparirà la **Programming Grid** (griglia di programmazione) con il modello di protocollo selezionato, visualizzato nell’intestazione della griglia.

## Selezione del volume di distribuzione del reagente per tutte le fasi di un protocollo (Selecting Reagent Dispense Volume for All Steps in a Protocol)

1. Scegliere il pulsante **Reagent Volume** (volume reagente) nell’angolo in alto a destra della schermata **Protocol Template Design** (Disegno modelli del protocollo). Apparirà una finestra di dialogo con i vari volumi di distribuzione nella fase di reagente prescelta.
2. Selezionare il rombo in rilievo accanto al volume appropriato e fare clic su **OK**. Il volume selezionato sarà applicato a tutte le fasi del modello di protocollo.
3. Fare clic sul pulsante **Use Template** (usa modello). Un messaggio chiederà “Salvare su disco?” (“Save on Disk now”). Scegliere il pulsante **Yes** (sì), immettere un nome di modello e fare clic su **OK**. Scegliere il pulsante **No** (Non), per usare il modello senza salvare le modifiche. Il volume distribuito selezionato viene visualizzato nell’intestazione della griglia sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione).

## Selezione del volume distribuito del reagente per una fase specifica di un protocollo (Selecting Reagent Dispense Volume for a Specific Step in a Protocol)

1. Selezionare una fase di modello di protocollo nell’elenco **Protocol Outline** (profilo del protocollo), per assegnare un nuovo volume distribuito del reagente.
2. Scegliere il pulsante **Reagent Volume** (volume reagente) nell’angolo in alto a destra della schermata **Protocol Template Design** (Disegno modelli del protocollo). Apparirà una finestra di dialogo con i vari volumi distribuiti nella fase di reagente prescelta.
3. Selezionare il volume distribuito prescelto facendo clic sul rombo in rilievo accanto al volume appropriato e scegliendo **OK**. Il volume selezionato sarà applicato alla fase specifica del **Protocol Template** (modello di protocollo).
4. Fare clic sul pulsante **Use Template** (usa modello). Un messaggio chiederà “Salvare su disco?”. Scegliere il pulsante **Yes** (sì), immettere un nome di modello e fare clic su **OK**. Scegliere il pulsante **No** (Non), per usare il modello senza salvare le modifiche. Il volume distribuito selezionato viene visualizzato nell’intestazione della griglia sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione).

# Sezione 6

# Programmazione di un ciclo di colorazione

L’Autostainer può processare fino a un massimo di 48 vetrini per microscopio per ciclo di colorazione. Ogni vetrino può essere colorato usando un protocollo delineato indipendentemente. Dopo aver immesso le informazioni relative al vetrino e dopo aver selezionato il modello di protocollo, ad ogni vetrino vengono assegnati reagenti specifici. Questo viene effettuato dalla **Programming Grid** (griglia di programmazione). Questa sezione descrive la programmazione di reagenti specifici per un ciclo di colorazione.

## Definizione dei reagenti di rilevazione (Defining Detection Reagents)

Prima di poter programmare reagenti specifici per i vetrini, bisogna immettere le informazioni relative ai vetrini e selezionare un modello di protocollo, come descritto nelle Sezioni 4 e 5. Viene visualizzata la **Programming Grid** (griglia di programmazione), che elenca i vetrini identificati durante l’immissione della conta o delle informazioni dei vetrini. Viene evidenziato il primo campo programmabile e viene visualizzato un elenco di reagenti disponibili per la fase.

1. Selezionare un reagente, usando i tasti freccia SU e GIÙ ed inserire il reagente, premendo INVIO. Un messaggio chiede “Assegnare ai seguenti vetrini non programmati?” (“Assign to the following unprogrammed slides?”)

2. Scegliere **Yes** (sì) per assegnare il reagente selezionato ai vetrini rimanenti nella griglia; viene evidenziata la fase programmabile successiva. Scegliendo **No** (Non), il reagente sarà assegnato solo alla fase evidenziata.
3. Dopo aver programmato tutti i reagenti, fare clic sul pulsante **Next** (avanti). A questo punto, il sistema esplora la griglia in cerca di lavaggi mancanti. Se manca un lavaggio tra due reagenti, un messaggio chiede se si desidera continuare.
4. Scegliere **Yes** (sì) e, se il programma è nuovo, una finestra di dialogo chiede „Salvare il programma su disco?“ (“Save program on disk?”) Altrimenti, compare la schermata **Slide Layout Map** (mappa disposizione vetrini). Selezionare **Back to Grid** (torna alla griglia), per ritornare alla **Programming Grid** (griglia di programmazione) e il lavaggio mancante apparirà nella griglia.

## Definizione degli anticorpi primari (Defining Primary Antibodies)

Ogni reagente anticorpo primario viene programmato individualmente ed apparirà sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione) assieme al suo pretrattamento programmato (vedere “Gestione dei reagenti”, Sezione 7). Gli anticorpi primari e/o i pretrattamenti possono essere fasi manuali e vengono registrati sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione) e sugli stampati. Se un reagente è una fase manuale (es. incubazione notturna, smascheramento del bersaglio ecc.), viene eseguita prima che i vetrini vengano caricati.

**Nota:** Un pretrattamento dell’anticorpo primario appare automaticamente con l’anticorpo primario, solo se il modello di protocollo contiene un elemento del protocollo di pretrattamento (vedere “Creazione di un protocollo”, Sezione 5).

1. Immettere le informazioni riguardanti i vetrini, selezionare un modello di protocollo ed aggiungere i reagenti di rilevazione necessari. Quando viene evidenziato il primo anticorpo primario (Primary Antibody) programmabile, viene visualizzato un elenco di Primary Antibodies (anticorpi primari) disponibili.
2. Selezionare dall’elenco l’anticorpo desiderato, usando i tasti freccia SU e GIÙ della tastiera e premere INVIO.

   **Nota:** Per rendere un pretrattamento una fase manuale, fare clic con il tasto destro su di un pretrattamento. Viene visualizzato l’elenco dei pretrattamenti disponibili. Selezionare dall’elenco il pretrattamento desiderato.

3. Alla fine dell’elenco degli anticorpi primari, vengono elencati i controlli negativi universali ed i controlli negativi compatibili assegnati precedentemente e salvati; a questi controlli negativi si può accedere con la tastiera, premendo il tasto MAIUSCOLA e digitando “_”. Una volta selezionato il controllo negativo corretto, premere INVIO e sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione) compariranno il reagente negativo ed il pretrattamento selezionati.
4. Scegliere il pulsante **Next** (avanti); il sistema esplora la griglia in cerca di lavaggi mancanti. Se manca un lavaggio tra due reagenti, un messaggio chiede se si desidera continuare.
5. Scegliere **Yes** (sì) e, se il programma è nuovo, una finestra di dialogo chiede „Salvare il programma su disco?“ (“Save program on disk?”) Altrimenti, compare la schermata **Slide Layout Map** (mappa disposizione vetrini). Scegliere **No** (Non), per ritornare alla **Programming Grid** (griglia di programmazione) e il lavaggio mancante apparirà nella griglia.

## Assegnazione dei reagenti per il controllo positivo e negativo (Assigning Positive and Negative Control Reagents)

I reagenti per il controllo positivo e negativo possono essere aggiunti automaticamente, per ogni anticorpo primario aggiunto alla **Programming Grid** (griglia di programmazione). I controlli vengono aggiunti come nuovi vetrini e contengono i reagenti compatibili per la rilevazione del campione biologico saggiato.

### Aggiunta di reagenti per il controllo positivo e negativo (Adding Positive and Negative Control Reagents)

1. Immettere le informazioni riguardanti i vetrini (Slide Information) e selezionare un modello di protocollo. Va programmato almeno un vetrino, tramite **Slide Count** (conta vetrini) o mediante la schermata **Slide Information** (informazioni vetrini). Fare clic su **OK** o sul pulsante **Finish Entry** (fine immissione).
2. Compilare le colonne della **Programming Grid** (griglia di programmazione) con i reagenti specifici per ogni vetrino. Dopo aver applicato l'anticorpo primario, sulla barra di menù vengono visualizzati i pulsanti **Neg.Ctl** (controllo negativo) e **Pos.Ctl** (controllo positivo). Continuare, immettendo i reagenti di rilevazione.
3. Per inserire un controllo positivo compatibile, fare clic sul pulsante **Pos.Ctl** (controllo positivo). Sarà aggiunto un vetrino alla **Programming Grid** (griglia di programmazione) con reagenti compatibili con l'ultimo vetrino programmato. Nella colonna del numero di vetrino, appare PC (reagente di controllo positivo).

### Controlli negativi (Negative Controls)

Per i controlli negativi, sono a disposizione due opzioni:

- Controlli negativi unici per ogni anticorpo primario.

- Controlli negativi universali, che usano un controllo negativo generico per tutti gli anticorpi di un certo tipo. L'Autostainer usa due tipi differenti di controllo negativo: serie N (topo e coniglio) e serie NP (topo e coniglio). Il pulsante **Neg.Ctl** (controllo negativo) assegna automaticamente il controllo negativo universale appropriato, ad esempio UNC per gli anticorpi della serie N e UNC+ per gli anticorpi della serie NP. La serie NP è usata con kit di elevata sensibilità, quali EnVision+ e LSAB+.

Dako Universal Negative Controls (UNC) (controlli negativi universali) sono disponibili per gli anticorpi pronti per l'uso. Se si sceglie l'opzione Universal Negative Control, tutti i controlli negativi compatibili, designati con "_NC" (cioè NCVimentin) sull'elenco degli anticorpi primari, vanno eliminati dall'elenco dei reagenti.

**Nota:** In caso si necessiti assistenza per l'eliminazione dei controlli negativi compatibili, si prega di rivolgersi al proprio rappresentante Dako.

### Assegnazione di tipo di controllo negativo agli anticorpi (Assigning Negative Control Type to Antibodies)

1. Dalla **Programming Grid** (griglia di programmazione), selezionare **Edit Lists** (modifica elenchi) dalla barra di menù.
2. Selezionare la categoria **Primary Antibody** (anticorpo primario) dall'elenco dei reagenti.
3. Selezionare un anticorpo precedentemente definito o aggiungere un nuovo anticorpo all'elenco
4. Immettere il codice di compatibilità corretto (vedere "Controllo compatibilità", Sezione 7).
5. Selezionare **UNC** o **UNC plus** nel campo **Neg.Ctl Type** (tipo di controllo negativo), per assegnare un Universal Negative Control (controllo negativo universale).

### Uso dello strumento Controllo negativo (Negative Control Tool)

Per inserire un Universal Negative control (controllo negativo universale), fare clic sul pulsante **Neg.Ctl** (controllo negativo) nella **Programming Grid** (griglia di programmazione).

**Nota:** Lo strumento **Neg.Ctl** (controllo negativo) seleziona uno dei quattro Universal Negative Controls (controlli negativi universali), a seconda della compatibilità e del tipo di controllo negativo definito per l'anticorpo primario. Se l'anticorpo primario non ha definita alcuna compatibilità, né alcun tipo di controllo negativo, appare un messaggio di errore, che comunica l'assenza del reagente di controllo negativo compatibile.

**Nota:** Se non si desidera usare la funzione sopra descritta, si può continuare la programmazione come al solito. Questa funzione non è attiva quando si usa Auto Program (programma Auto).

## Definizione di lavaggi specifici (Defining Specific Rinses)

Dopo ogni reagente programmato (eccetto che per Protein Block (blocco Proteine), dove viene aggiunta una fase di soffio d'aria), viene aggiunto un lavaggio, quando assegnato come descritto sopra. Il tipo di lavaggio viene selezionato nella schermata **Protocol Template** (vedere "Creazione di un protocollo", Sezione 5).

Il tipo di lavaggio può essere anche cambiato dalla **Programming Grid** (griglia di programmazione).

Fare clic su un riquadro attivato in una colonna lavaggio. Fare di nuovo clic, per cambiare il lavaggio in una selezione diversa: rinse buffer (lavaggio con tampone), rinse (DI) water (lavaggio con acqua deionizzata), blow (soffio d'aria), o none (nessun elemento).

**Nota:** I lavaggi che precedono uno smistamento (switch) non possono essere cambiati dalla **Programming Grid** (griglia di programmazione). Il lavaggio alla fine di un ciclo non può essere cambiato in una fase di soffio d'aria.

## Programmazione Auto (Auto Programming)

**Auto Programming** (programmazione Auto) è una funzione che rende più efficiente la programmazione dei vetrini. Questa funzione è usata per salvare tutto o parte di un protocollo, per l'uso in future programmazioni. Un Auto Program può consistere in una o più file di programmazione. La sicurezza di livello basso non permette di creare, né di salvare Auto Programs.

1. Immettere le informazioni riguardanti i vetrini e selezionare un modello di protocollo. Va programmato almeno un vetrino, tramite **Slide Count** (conta vetrini) o mediante la schermata **Slide Information** (informazioni vetrini). Fare clic su **OK** o sul pulsante **Finish Entry** (fine immissione).
2. Compilare le colonne della **Programming Grid** (griglia di programmazione) con i reagenti specifici, eccetto l'anticorpo primario, per uno dei vetrini programmati.

   **Nota:** Così si crea un Auto Program solo per i reagenti di rilevazione. Per creare un Auto Program per un protocollo che include l'anticorpo primario, immettere l'anticorpo primario e i reagenti di rilevazione specifici nelle colonne della griglia di programmazione.

3. Selezionare **Auto** dalla barra di menù della **Programming Grid** (griglia di programmazione).
4. Selezionare **Setup** (imposta) dal menù **Auto**. **Auto** si trasforma in **Setup** (imposta) sulla barra di menù.
5. Selezionare una o più file di riquadri programmati, facendo clic sulla prima fila. Fare clic e trascinare verso le file addizionali selezionate. Tutte le file selezionate sono evidenziate. Rilasciare il pulsante del mouse ed apparirà la finestra **Save Auto Program (**salva programma Auto).
6. Immettere un nome di file per il protocollo salvato. Il nome di file di Auto Program può contenere fino a otto caratteri alfanumerici, senza simboli o spazi vuoti. Scegliere il pulsante **OK**.
7. Selezionare **Setup** (imposta) dalla barra di menù. **Setup** (imposta) si trasforma in **Auto** e termina la funzione Auto Program.

   **Nota:** Per usare un Auto Program già salvato, il modello che si sta programmando deve contenere gli stessi elementi di protocollo, elencati nello stesso ordine, dell'Auto Program salvato. Per trovare il modello di protocollo corretto, usare la funzione Auto file. I volumi distribuiti non devono necessariamente essere gli stessi.

### Eliminazione di un elemento di programmazione Auto (Deleting an Auto Programming Item)

1. Selezionare **Auto** dalla barra di menù della **Programming Grid** (griglia di programmazione).
2. Selezionare **Setup** (imposta) dal menù **Auto**. La parola **Auto** si trasforma in **Setup** (imposta).
3. Selezionare ogni riquadro attivato sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione), per visualizzare la finestra **Save Auto Program** (salva programma Auto).
4. Fare clic sull'Auto Program da eliminare.
5. Fare clic sul pulsante **Delete Program** (elimina programma).

6. Fare clic sul pulsante **Yes** (sì), per eliminare il programma.

## Uso di un elemento di programmazione Auto (Using an Auto Programming Item)

1. Selezionare **Auto** dalla barra di menù della **Programming Grid** (griglia di programmazione).
2. Selezionare **Program** (programma) dal menù **Auto**.
3. Selezionare un riquadro nella fila in cui Auto Program va inserito. Un elenco visualizza i file salvati di Auto Program, che possono essere assegnati per questo vetrino.
4. Selezionare il nome di file desiderato per Auto Program, per inserire il programma.
5. Se l'Auto Program non contiene alcun anticorpo primario, un messaggio avverte: "Assegnare a tutti i vetrini seguenti" (Assign to all following slides).
6. Fare clic su **Yes** (sì), per assegnare l'Auto Program a tutti i vetrini non programmati. Fare clic su **No** (Non), per assegnare l'Auto Program solo a questo vetrino.

   **Nota: Skip** (tralascia) è il primo elemento nell'elenco di **Auto Program**. Selezionare quest'opzione se si vuole lasciare un vetrino senza programmazione.

7. Selezionare **Program** (Programma).
8. Fare clic sul pulsante **Next** (avanti). A questo punto, il sistema esplora la griglia in cerca di lavaggi mancanti. Se manca un lavaggio tra due reagenti, un messaggio chiede se si desidera continuare.
9. Scegliere **Yes** (sì) e, se il programma è nuovo, una finestra di dialogo chiede „Salvare il programma su disco?" ("Save program on disk?") Altrimenti, compare la schermata **Slide Layout Map** (mappa disposizione vetrini). Selezionare **No** (Non), per ritornare alla **Programming Grid** (griglia di programmazione) e il lavaggio mancante apparirà nella griglia.

## Copia/Incolla (Copy/Paste)

1. La funzione **Copy/Paste** (copia/incolla) copia i reagenti da un vetrino all'altro durante la programmazione dei vetrini.
2. Selezionare **Copy** (copia) dalla barra di menù della **Programming Grid** (griglia di programmazione)**.** La parola **Copy** (copia) si trasforma in **Select** (seleziona)**.**
3. Usare il puntatore del mouse per selezionare le fasi da copiare, facendo clic e trascinando attraverso i riquadri desiderati. Una volta che i riquadri o le file sono evidenziati, la parola **Select** (seleziona) si trasformerà in **Paste** (incolla).
4. Fare clic nell'area in cui si desidera inserire la selezione copiata.

   **Nota:** Le file copiate possono essere incollate solo sotto la stessa intestazione e non possono essere incollate in aree che non siano attualmente evidenziate.
5. Selezionare **Paste** (incolla) sulla barra di menù per disattivare la funzione **Copy** (copia).

## Modifica di una fase del protocollo (Editing a Protocol Step)

Il software di Autostainer offre, sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione), diversi metodi per modificare i reagenti in un determinato ciclo di colorazione.

**Modifica di un reagente di una fase:**

1. Fare clic sulla fase del reagente che si desidera modificare.
2. Selezionare dall'elenco il reagente desiderato. Viene visualizzato il nuovo reagente per la fase.

**Sostituzione di un reagente con la fase skip (senza aggiunta di reagente al vetrino):**

1. Fare clic sulla fase del reagente che si desidera modificare.
2. Selezionare la parola **None** (nessun elemento).

**Modifica di un reagente in una fase di colorazione, solo per un ciclo:**

1. Per modificare un reagente in una fase di colorazione o per usare un reagente non elencato nell'elenco reagenti, fare clic sulla fase appropriata.
2. Selezionare **Edit Slide** (modifica vetrino) dall'elenco reagenti. La finestra **Edit Individual Slide Reagent** (modifica reagente individuale del vetrino) visualizza le informazioni associate al reagente.

   **Nota:** Lotto (Lot) e data (date) non possono essere qui modificati ed appaiono in grigio. Il nome lungo (long name), il nome corto (short name), la compatibilità (-compatibility) ed il tempo d'incubazione (incubation time) del reagente possono essere modificati.

3. Aggiungere un nuovo reagente, immettendo le informazioni appropriate.
4. Scegliere il pulsante **OK**. Il nuovo reagente viene aggiunto solo per il ciclo attuale di colorazione, non all'elenco di reagenti disponibili per questa fase.

   **Nota:** Non usare i simboli nella modifica di informazioni dei reagenti: potrebbero risultarne errori di esecuzione.

## Opzioni di stampa (Printing Options)

Autostainer permette di stampare le etichette dei vetrini e dei reagenti, così come anche dei rapporti, contenenti informazioni sui programmi, sui cicli e sui reagenti conservati.

### Etichette vetrini (Slide Labels)

1. Scegliere il pulsante **Print** (stampa), in basso sulla schermata **Programming Grid** (griglia di programmazione). La schermata **Which Report** (quale rapporto) visualizza sette opzioni.
2. Scegliere il pulsante **Slide Labels** (etichette vetrini).

3. Per stampare tutte le etichette vetrini per il programma, scegliere il pulsante **All Labels** (tutte le etichette). Il formato delle etichette vetrini viene determinato tramite la schermata **Design Slide Label** (crea etichetta vetrino), alla quale si accede dalla schermata **Initialize** (vedere “Inizializza”, Sezione 3).
4. Per stampare un ambito di etichette, digitare l’ambito con un trattino fra il numero iniziale e quello finale (es. 5-12). Per stampare etichette singole, digitare i numeri delle etichette separati da virgole (es. 1,14,22). Entrambi i formati possono essere usati per stampare una combinazione di un ambito di etichette e di etichette singole (es. 5-12,14,22). Non usare spazi fra le cifre.

### Etichette reagenti (Reagent Labels)

Stampa di etichette reagenti di un ciclo programmato:

1. Programmare o recuperare un ciclo precedentemente salvato sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione) e scegliere il pulsante **Print** (stampa).
2. Appare la schermata **Which Report** (quale rapporto); fare clic sul pulsante **Reagent Labels** (etichette reagenti).
3. Per stampare tutte le etichette reagenti, scegliere il pulsante **Print All** (stampa tutte).
4. Per stampare specifici reagenti, fare clic sui reagenti desiderati e scegliere il pulsante **OK**.

Stampa di etichette reagenti non associate ad un programma specifico:

1. Scegliere il pulsante **Print** (stampa) sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione).
2. Appare la schermata **Which Report** (quale rapporto); fare clic sul pulsante **Reagent Labels** (etichette reagenti).
3. Appare la schermata **Print Reagent Labels** (stampa etichette reagenti).
4. Scegliere il pulsante **Other Reagents** (altri reagenti).
5. Per stampare tutte le etichette reagenti, scegliere il pulsante **Print All** (stampa tutte).
6. Per stampare specifici reagenti, fare clic sui reagenti desiderati e scegliere il pulsante **OK**.

### Rapporti

| | |
|---|---|
| Rapporto Program Grid | Stampa la **Programming Grid** (griglia di programmazione), comprese tutte le informazioni vetrini, intestazioni del protocollo, reagenti specifici, informazioni sull’istituto, utente, data di stampa, numero di identificativi vetrino, numero di caso e numero di serie dell’Autostainer. |
| Rapporto IHC | Raggruppa tutti i vetrini secondo il numero di caso e include i numeri di vetrino, le informazioni sull’anticorpo primario, il nome e il tempo d’incubazione di tutti i reagenti usati. |
| Rapporto Run Log (diario ciclo) | Stampa tutte le fasi eseguite nel corso del ciclo. |

1. Scegliere il pulsante **Print** (stampa) sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione).
2. Scegliere il pulsante **Program Grid** (griglia del programma), **IHC**, o **Run Log** (diario ciclo).

## Visualizzazione dei vetrini programmati (Viewing Programmed Slides)

Quando la programmazione dei reagenti è terminata, appare la prima **Slide Layout Map** (mappa disposizione vetrini)**.** La schermata **Slide Layout Map** (mappa disposizione vetrini) rappresenta tutti e 48 i vetrini, visti dal lato frontale dell'Autostainer. Su questa schermata, possono essere cambiati il volume distribuito e le bande di distribuzione di ogni vetrino. La zona di distribuzione del reagente viene visualizzata da un'evidenziatura in giallo.

### Assegnazione delle zone di distribuzione del reagente (Assigning Reagent Dispense Locations)

L'area non smerigliata di ogni vetrino viene suddivisa in tre sezioni orizzontali uguali o "zone di distribuzione". Ogni vetrino può avere una o tre zone di distribuzione; il volume massimo distribuito per ogni vetrino non può superare gli 800 µL. La zona di distribuzione predefinita viene programmata durante l'inizializzazione. Modifiche del volume di distribuzione o della zona di distribuzione di un vetrino nella **Slide Layout Map** (mappa disposizione vetrini)**: Program Slides** (vetrini programmati) cambierà il colore del testo del vetrino da nero a rosso nella **Slide Layout Map** (mappa disposizione vetrini).

### Stampa di una Mappa disposizione vetrini (Slide Layout Map)

La **Slide Layout Map** (mappa disposizione vetrini) fornisce una nota del volume di distribuzione del reagente e della zona di distribuzione. Questa è utile per accertarsi che i vetrini siano caricati correttamente.

1. Scegliere il pulsante **Next** (avanti) sulla **Reagent Layout Map** (mappa disposizione reagenti) (vedere Sezione 8).
2. Scegliere il pulsante **Print** (stampa).

### Selezione di una nuova zona di distribuzione del reagente per tutti i vetrini (Selecting a new reagent-dispense location for all slides):

1. Selezionare lo strumento **All Slides** (tutti i vetrini) nell'angolo in alto a sinistra della **Slide Layout Map** (mappa disposizione vetrini)**: Program Slides** (vetrini programmati).
2. Per selezionare una nuova zona di distribuzione, fare clic sulla zona prescelta del vetrino.

3. Per assegnare più di una zona di distribuzione sullo strumento **All Slides** (tutti i vetrini), mantenere premuto il tasto CTRL e contemporaneamente fare clic sulle zone di distribuzione prescelte.
4. Fare clic sul volume di distribuzione. Un messaggio visualizza i possibili volumi di distribuzione.
5. Selezionare il rombo in rilievo accanto al volume di distribuzione prescelto.
6. Scegliere il pulsante **OK** oppure premere INVIO.
7. Lo **Slide Dispense Tool** (strumento distribuzione vetrino) permette di effettuare queste modifiche per un vetrino specifico. Lo strumento pulsante **Slide Dispense Tool** (strumento distribuzione vetrino) funziona in modo identico allo strumento **All Slides** (tutti i vetrini), tranne che l'utente non sia in grado di manipolare la banda di distribuzione e la quantità di applicazione di reagente solo al vetrino selezionato.

# Sezione 7

# Gestione dei reagenti

Usando i comandi del menù **Edit Lists** (modifica elenchi), sulla **Programming Grid** (griglia di programmazione), è possibile creare e modificare gli elenchi dei reagenti.

## Aggiunta reagenti di rilevazione (Adding Detection Reagents) Secondario (Secondary), Terziario (Tertiary), Substrato (Substrate) ecc.)

1. Dalla **Programming Grid** (griglia di programmazione), selezionare **Edit Lists** (modifica elenchi) dalla barra di menù.
2. Selezionare la categoria di reagenti dall'elenco.
3. Immettere il nome completo del reagente che si desidera aggiungere all'elenco attuale e premere INVIO. Per i reagenti di rilevazione, il software consente di immettere fino a 33 caratteri alfanumerici. Nel campo **Long Name** (nome lungo) del reagente, non è possibile usare simboli.
4. Immettere il nome abbreviato del reagente nel campo **Short Name** (nome corto) e premere INVIO. Il nome abbreviato non può contenere più di 10 caratteri alfanumerici e deve essere unico, per distinguere ogni reagente dagli altri. Nel nome abbreviato del reagente, non è possibile usare simboli. Il cursore si sposta nel campo **Compatibility** (compatibilità).
5. Immettere il codice di compatibilità corretto e premere INVIO. L'assegnazione di informazioni sulla compatibilità è facoltativa (vedere "Controllo compatibilità", alla fine di questa sezione).
6. Immettere il numero di lotto del reagente e premere INVIO. Il numero di lotto non può contenere più di 8 caratteri alfanumerici. Le informazioni sul numero di lotto sono facoltative.
7. Immettere la data di scadenza del reagente e premere INVIO. La data di scadenza del reagente è facoltativa. Usare il formato MM/AA

   **Nota:** Tutte le date di scadenza sono limitate ad un massimo di 10 anni dalla data di registrazione.

8. Immettere il tempo d'incubazione del reagente e premere INVIO. Seguire i punti 3-8, fino a quando tutti i reagenti non siano stati aggiunti.

   **Nota:** In condizioni di funzionamento appropriate, è richiesto un tempo minimo d'incubazione di due minuti.

9. Scegliere il pulsante **OK**, per aggiungere nuovi reagenti alla **Reagent List** (liste reagenti).

## Aggiunta anticorpi primari (Adding Primary Antibodies)

Un anticorpo primario può essere aggiunto all'elenco reagenti con un corrispondente reagente di pretrattamento. Ciò facilita la selezione automatica del pretrattamento, quando un anticorpo primario venga selezionato dalla **Programming Grid** (griglia di programmazione).

1. Seguire gli stessi punti della sezione "Aggiunta reagenti di rilevazione".

   **Nota:** Per aggiungere un controllo negativo compatibile, usare esattamente lo stesso nome del controllo positivo, aggiungendo il prefisso "_NC" all'inizio del nome del reagente.

2. Se l'anticorpo primario è una fase effettuata al di fuori dell'Autostainer (es. incubazione notturna) o se richiede il riscaldamento, verificare la casella di controllo Manual Step (fase manuale), premendo la BARRA SPAZIATRICE.
3. Immettere il codice di compatibilità (compatibility code) corretto e premere INVIO. L'assegnazione di informazioni sulla compatibilità è facoltativa (vedere "Controllo compatibilità", alla fine di questa sezione).
4. Selezionare il pretrattamento (pretreatment) dalla casella, usando le frecce SU e GIÙ, oppure digitare un nuovo nome pretrattamento e premere INVIO.

   **Nota:** Se **Manual Step** (fase manuale) è selezionato, il tempo d'incubazione sarà "0". Non modificare questo tempo.

## Modifica ed eliminazione di liste reagenti (Editing and Deleting Reagent Lists)

1. Dalla **Programming Grid** (griglia di programmazione), selezionare **Edit Lists** (modifica elenchi) dalla barra di menù.
2. Selezionare la categoria di reagenti dall'elenco.
3. Modificare i campi, evidenziando le informazioni e digitando sopra di esse. Quando si cambia il nome del reagente, il software salva la modifica come un nuovo reagente.
4. Per eliminare, fare clic sul pulsante **Delete** (elimina).
5. Scegliere il pulsante **OK**.

## Aggiornamento del numero di lotto del reagente e della data di scadenza (Updating a Reagent Lot Number and Expiration Date)

1. Dalla **Programming Grid** (griglia di programmazione), selezionare **Edit Lists** (modifica elenchi) dalla barra di menù.
2. Selezionare la reagent category (categoria dei reagenti) dall'elenco e scegliere uno specifico reagente.
3. Evidenziare il numero di lotto attuale, visualizzato nella casella lot (lotto). Digitare il nuovo numero di lotto; apparirà il pulsante **Change** (modifica).

4. Evidenziare la date (data) visualizzata nella casella ed immettere la nuova data di scadenza.
5. Fare clic sul pulsante **Change** (modifica): tutti i campi vengono cancellati.
6. Scegliere il pulsante **OK** e una finestra di dialogo chiede „Salvare le modifiche su disco?“ (“Save changes on disk?”)
7. Scegliere **Yes** (sì), per salvare il numero di lotto e la data di scadenza nuovi. Scegliere il pulsante **No** (Non) e il reagente non sarà modificato.

## Controllo compatibilità (Compatibility Check)

È compreso un controllo della compatibilità, che ha lo scopo di minimizzare gli errori di programmazione risultanti dall’assegnazione di reagenti incompatibili (quali streptavidina marcata con fosfatasi alcalina e substrato DAB) ad un protocollo vetrini. Questa funzione presenta due livelli di verifica. La prima verifica è per la compatibilità della reattività della specie dell’anticorpo primario e del reagente secondario. La seconda indirizza le regole di compatibilità, dettate dall’enzima usato nel sistema di rilevazione. La seguente tabella riassume le regole ed i codici di compatibilità, assegnati ad ogni tipo di reagente.

Ogni reagente della lista categorie di reagenti (reagent categories) [o Protocol Element (elemento di protocollo)] può essere programmato con un codice o con una combinazione di codici di compatibilità appropriati. Ad esempio, un reagente legante che reagisce con anticorpi di topo e di coniglio può essere marcato con il codice di compatibilità AB. Il software verifica che queste regole di compatibilità non siano violate durante la programmazione di un ciclo di colorazione. Se viene assegnato un reagente incompatibile ad un riquadro della programming grid (griglia di programmazione), un messaggio visualizzerà i due reagenti incompatibili.

**Reattività di specie**

| Tipo reagente (Elemento di protocollo) | Descrizione | Codice compatibilità |
|---|---|---|
| Primary Antibody (anticorpo primario) | Anticorpi primari monoclonali prodotti nel topo (es. anti umani di topo) | A |
| Primary Antibody (anticorpo primario) | Anticorpi primari policlonali prodotti nel coniglio (es. anti umani di coniglio) | B |
| Secondary Reagent (reagente secondario) | Reagenti secondari (anticorpi) compatibili con anticorpi monoclonali prodotti nel topo (es. IgG biotinilate antimurine) | A |
| Secondary Reagent (reagente secondario) | Reagenti secondari (anticorpi) che reagiscono con anticorpi policlonali prodotti nel coniglio (es. IgG biotinilate anti-coniglio) | B |
| Secondary Reagent (reagente secondario) | Reagenti secondari (anticorpi) che reagiscono sia con anticorpi monoclonali, sia con quelli policlonali, prodotti rispettivamente nel topo o nel coniglio | AB |

**Compatibilità enzima del sistema**

| Tipo reagente (Elemento di protocollo) | Descrizione | Codice compatibilità |
|---|---|---|
| Endogenous Enzyme (enzima endogeno) | Blocco, compatibile con la HRP | X |
| Endogenous Enzyme (enzima endogeno) | Blocco, compatibile con la AP | Y |
| Tertiary Reagent (reagente terziario) | Streptavidina marcata con la HRP | X |
| Tertiary Reagent (reagente terziario) | Streptavidina marcata con la AP | Y |
| Substrate (substrato) | Substrati compatibili con la HRP (es. DAB, AEC) | X |
| Substrate (substrato) | Substrati compatibili con la AP (es. Fast Red, New Fuchsin) | Y |

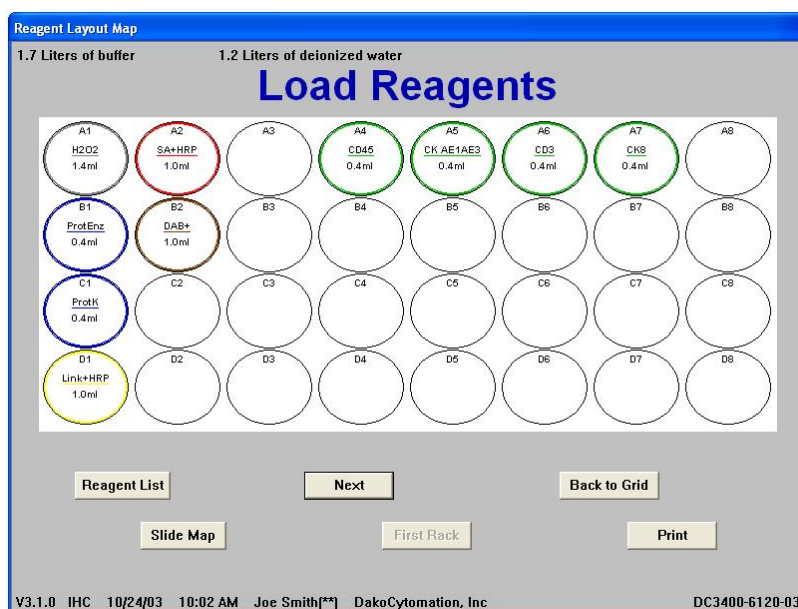
# Sezione 8

# Caricamento dei reagenti

Dopo aver concluso la programmazione, l'Autostainer calcola il tempo richiesto per il ciclo di colorazione, la quantità richiesta di tampone di lavaggio o di acqua deionizzata ed il posizionamento più conveniente per le fiale di reagente.

## Schermata "Mappa disposizione reagenti" (Reagent Layout Map Screen)

La **Reagent Layout Map** (mappa disposizione reagenti) documenta le posizioni dei reagenti nel loro raccoglitore, compreso il volume di riempimento necessario per portare a termine il ciclo di colorazione. La mappa può visualizzare al massimo 32 fiale di reagenti per raccoglitore. Le abbreviazioni dei reagenti vengono visualizzate nelle posizioni alfanumeriche appropriate del raccoglitore.

Ogni posizione di reagente è codificata da un colore, corrispondente ai colori dei reagenti Dako e ai colori della **Programming Grid** (griglia di programmazione). Se sono richieste più di 32 fiale di reagente, diventa disponibile un pulsante **Second Rack** (secondo raccoglitore).

1. Scegliere il pulsante **Next** (avanti) nella **Slide Layout Map** (mappa disposizione vetrini)**: Program Slides** (vetrini programmati), un messaggio chiede: "Salvare il programma su disco?" ("Save program on disk?")
2. Scegliendo **No** (Non), apparirà la **Reagent Layout Map** (mappa disposizione reagenti).

3. Caricare le fiale di reagente secondo la mappa. Il volume di reagente visualizzato comprende un volume morto di almeno 200 µL.
4. Assicurarsi che nelle fiale sia presente una quantità di reagente sufficiente a portare a termine il ciclo programmato e che il raccoglitore sia correttamente posizionato.
5. Controllare che le fiale di reagente non contengano bolle d’aria nello strato superiore della soluzione. Espellere le bolle d’aria eventualmente presenti.

## Avviso di Reagente mancante (Missing Reagent Notice)

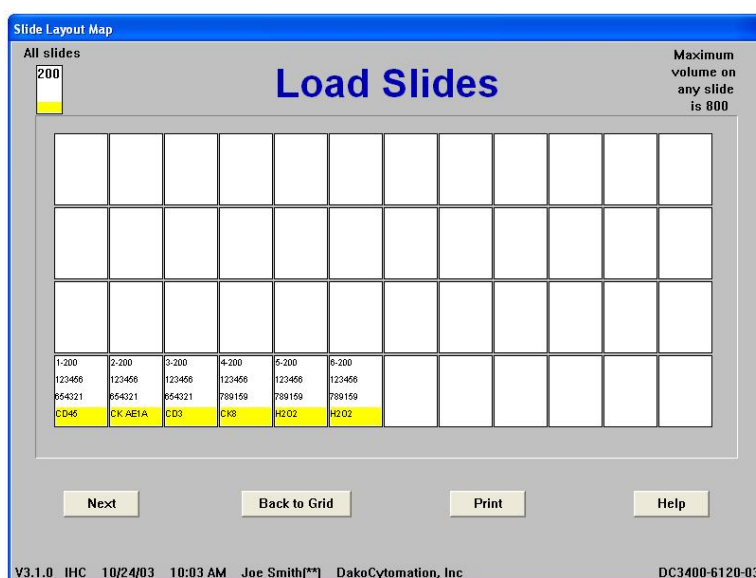
L’Autostainer visualizza un prompt, quando viene rilevato un volume di reagente insufficiente. È possibile mettere il sistema in pausa ed aggiungere ulteriore reagente alla fiala specificata. Se non è disponibile un volume sufficiente di un reagente e non si risponde al prompt, l’Autostainer continua il ciclo e fornisce, sul diario del ciclo (Run Log), una lista dei vetrini tralasciati o parzialmente processati.

Per programmare il sistema a verificare i volumi sufficienti all’inizio del ciclo, selezionare l’opzione **Check Volumes** (verifica volumi) della schermata **Set Start Time** (imposta ora d’inizio) (vedere “Inizio ciclo di colorazione”, Sezione 9).

# Sezione 9

# Caricamento dei vetrini

Dopo aver concluso la programmazione ed il caricamento dei reagenti, si può procedere al caricamento dei vetrini sui rispettivi raccoglitori. Stampare la schermata **Slide Layout Map: Load Slides** (mappa disposizione vetrini: carica vetrini), scegliendo il pulsante **Print** (stampa) in alto sulla schermata stessa. Questa mappa offre una guida al caricamento dei vetrini e può essere salvata come parte della nota sulla colorazione.

**Nota:** Immergere i vetrini in una soluzione tampone contenente lo 0,05% di Tween-20 per almeno cinque minuti prima di caricare l'Autostainer.

## Carica vetrini (Load Slides)

L'Autostainer ha quattro raccoglitori per i vetrini, ognuno dei quali può contenere fino a dodici vetrini. I raccoglitori 1-4 hanno rispettivamente le posizioni vetrini 1-12, 13-24, 25-36, e 37-48. Il primo raccoglitore è localizzato vicino al bordo anteriore dell'apparecchio. Il secondo, il terzo ed il quarto si trovano dietro al primo.

1. Caricare i vetrini nel raccoglitore, inserendo l'estremità del vetrino con l'etichetta (con il campione biologico rivolto verso l'alto) in una clip. Il raccoglitore può essere posizionato angolarmente, in modo da facilitare il caricamento dei vetrini.
2. Caricare i vetrini nel raccoglitore in ordine numerico da sinistra a destra, in conformità allo stampato della schermata **Slide Layout Map: Load Slides** (disposizione vetrini: carica vetrini).

3. Una volta caricati tutti i vetrini nella loro corretta posizione e posizionati adeguatamente i raccoglitori sui rispettivi perni, versare delicatamente la soluzione tampone sui vetrini, per evitare che le sezioni si asciughino. Per ottenere un risultato ottimale, versare il tampone sull'etichetta del vetrino invece che direttamente sul campione biologico. Il tampone scorrerà sul campione, senza spostarlo.

   **Nota**: Quando i vetrini sono stati caricati, rimettere il raccoglitore in posizione orizzontale.

Sezione 10

# Inizio ciclo di colorazione

## Preparazione del sistema per un ciclo di colorazione (Preparing the System for a Staining Run)

Dopo aver caricato i vetrini con il campione biologico e le fiale contenenti il reagente, seguire la seguente lista di controllo:

**Vetrini**

- Deparaffinati e reidratati, immergere in tampone contenente lo 0,05% di Tween 20, usando un contenitore a spruzzo, per evitare che i vetrini si asciughino mentre si caricano altri vetrini.
- Posizionamento sicuro nel raccoglitore.

**Raccoglitori**

- Posizionamento sicuro nell'Autostainer.

**Reagenti**

- A temperatura ambiente
- Posizionati appropriatamente all'interno del raccoglitore.
- Controllare che non vi siano bolle d'aria.
- Controllare la presenza del volume minimo di reagente in ogni fiala, come specificato nella **Reagent Layout Map** (mappa disposizione reagenti).

**Tampone**

- Controllare il volume minimo per il tampone, indicato nella **Reagent Layout Map** (mappa disposizione reagenti), più l'eventuale volume addizionale elencato per portare a termine un ciclo ritardato.

**Acqua**

- Controllare il volume minimo per l'acqua, indicato nella **Reagent Layout Map** (mappa disposizione reagenti).

**Contenitori rifiuti**

- Controllare che abbiano lo spazio sufficiente per ospitare il volume di tampone e di acqua usati durante il ciclo di colorazione.

## Inizio rapido

1. Accendere il computer. Fare doppio clic sull'icona dell'Autostainer.
2. Immettere User Name (nome utente) e password; quindi premere INVIO.
3. Scegliere il pulsante **Program** (Programma) sul menù principale.
4. Selezionare **Slides** (vetrini) dalla barra di menù. (Per immettere informazioni riguardanti uno specifico vetrino, vedere la Sezione 4)

5. Immettere il conteggio dei vetrini per il ciclo di colorazione e fare clic su **OK**.

   **Nota:** Tralasciare i punti sei e sette, se si usa il modello predefinito.

6. Scegliere il pulsante **Protocol Template** (modello di protocollo) e selezionare un modello di protocollo per il ciclo.
7. Scegliere il pulsante **Use Template** (usa modello). Apparirà la **Programming Grid** (griglia di programmazione) con il protocollo selezionato.
8. Selezionare il volume e le bande di distribuzione desiderati per tutti i vetrini oppure per singoli vetrini.
9. Assegnare a tutti i vetrini gli anticorpi ed i reagenti specifici; quindi, scegliere il pulsante **Next** (avanti). Compare la schermata **Slide Layout Map** (mappa disposizione vetrini)**: Program Slides** (vetrini programmati).
10. Scegliere il pulsante **Next** (avanti) sulla **Reagent Layout Map** (mappa disposizione reagenti).
11. Caricare i reagenti, usando la **Reagent Layout Map** (mappa disposizione reagenti). Controllare il volume dell'acqua e del tampone; accertarsi che vi sia posto sufficiente per i rifiuti.
12. Scegliere il pulsante **Next** (avanti). Compare la schermata **Slide Layout Map: Load Slides** (disposizione vetrini: carica vetrini).
13. Caricare i vetrini, usando la schermata **Slide Layout Map: Load Slides** (disposizione vetrini: carica vetrini).
14. Fare clic sul pulsante **Next** (avanti).
15. Appare la schermata **Set Start Time** (imposta tempo d'inizio). Il sistema calcola la durata del ciclo e la quantità di tampone e di acqua deionizzata occorrente per portare a termine il ciclo.
16. Scegliere il pulsante **Prime Pump (Water)** [priming pompa (acqua)] e fare clic su **OK**.
17. Scegliere il pulsante **Prime Pump (Buffer)** [priming pompa (tampone)].
18. Impostare i livelli di reagente a **Check Volumes** (verifica volumi) o **Do Not Check Volumes** (senza verifica volumi).
19. Scegliere il pulsante **Start Run** (Inizio del ciclo).

### Schermata "Diario del ciclo" (Run Log Screen)

Durante un ciclo di colorazione, la schermata **Run Log** (diario del ciclo) viene aggiornata ad ogni fase eseguita.

- Il pulsante **New Program** (nuovo programma) viene usato per programmare un nuovo ciclo, quando il ciclo attuale è ancora in corso.
- Il pulsante **Review Program** (visualizza programma) viene usato per ritornare alla **Programming Grid** (griglia di programmazione), per visualizzare il ciclo in corso.
- Il pulsante **Emergency Stop** (arresto d'emergenza) può essere usato per interrompere un ciclo in qualsiasi momento.

## Spegnimento dell'Autostainer (Shutting Down the Autostainer)

1. Scegliere il pulsante **Sign Off** (uscita) sul **Main Menu** (menù principale).
2. Un messaggio comunica "Interrompere l'uso di Autostainer?" ("Quit using Autostainer?") Scegliere il pulsante **Yes** (sì).
3. Arrestare il computer.

# Sezione 11

# Manutenzione e risoluzione dei problemi

L'Autostainer va pulito dopo che 150 vetrini sono stati processati o dopo una settimana, a seconda di cosa si verifichi prima. L'apparecchio registra il numero dei cicli di colorazione effettuati e visualizza un messaggio per la manutenzione, su cui compare il numero di vetrini processati dall'ultimo ciclo di pulizia.

**Nota:** Per ulteriori informazioni sulla manutenzione, si prega di rivolgersi al proprio rappresentante Dako.

## Risoluzione dei problemi

| Problema | Possibile causa | Risoluzione |
|---|---|---|
| L'Autostainer non si accende (LED verde in alto spento). Messaggio visualizzato "Apparecchio non acceso" ("Instrument Not On") quando si inizia un ciclo. | L'Autostainer non è collegato alla presa di corrente. | Verificare la connessione elettrica e controllare che il limitatore di sovratensione sia inserito e acceso. |
| L'Autostainer non risponde quando si inizia un priming della pompa o un ciclo (LED in alto spento). Messaggio visualizzato "Apparecchio non acceso" ("Instrument Not On") quando si inizia un ciclo. | Il cavo di connessione tra Autostainer e computer non è inserito adeguatamente. | Arrestare il sistema e spegnerlo. Staccare e riconnettere il cavo tra Autostainer e computer. **Si prega di agire con cautela. Durante quest'operazione, i pin possono piegarsi, causando danni all'apparecchio.** |
| L'Autostainer si interrompe improvvisamente durante un ciclo. | L'Autostainer si arresterà frequentemente durante il ciclo. Ciò è dovuto ai tempi d'incubazione impostati. Controllare il diario del ciclo (run log). | Non è richiesta alcuna azione. L'Autostainer riprenderà il movimento. Controllare la schermata Run Log (diario del ciclo). |
| Il tampone o l'acqua deionizzata non scorrono via durante un ciclo o un priming. | L'Autostainer non è stato sottoposto a priming corretto. | Priming pompa. È possibile che la pompa debba essere attivata più volte. |
| | Tampone o acqua deionizzata in quantità insufficiente nell'apposito recipiente. | Riempire il recipiente con la quantità necessaria di liquido. Quindi, effettuare il priming della pompa. |
| | Tubature piegate o ristrette. | Raddrizzare le tubature ed effettuare il priming della pompa. |

| Problema | Possibile causa | Risoluzione |
|---|---|---|
| Il tampone o l'acqua deionizzata non scorrono via durante un ciclo o un priming. (Cont.) | Il tubo non è connesso con la presa d'alimentazione. | Controllare i tubi e verificarne la corretta connessione. |
| | I filtri della presa sono intasati ed ostacolano il flusso. | Controllare i filtri d'immissione all'estremità dei tubi nel contenitore e pulirli, se necessario. Dako raccomanda l'uso di un completo tubo + cappuccio (S3472) per impedire che oggetti estranei penetrino nei contenitori, ostruendo il filtro. |
| | Tubi non completamente inseriti nel contenitore. | Assicurarsi che i tubi per il tampone e per l'acqua deionizzata siano inseriti completamente nei contenitori adeguati. |
| | Pompa tampone/ acqua deionizzata difettosa. | Rivolgersi a un rappresentante Dako. |
| Tutti i rifiuti confluiscono in un unico contenitore. | "Switch" (smistamento) non è programmato nel Protocol Template (modello di protocollo). | Programmare uno "Switch" (smistamento) nel Protocol Template (modello di protocollo). |
| | Tubo dei rifiuti non inserito nel contenitore rifiuti adeguato. | Verificare che tutti i tubi per i rifiuti conducano al contenitore adeguato. |
| | Pompa rifiuti difettosa. | Rivolgersi a un rappresentante Dako. |
| I rifiuti si riversano nella vaschetta. | Filtro della vaschetta intasato. | Pulire il filtro quando l'apparecchio non è in funzione. Mediante uno spazzolino e dell'acqua, rimuovere il materiale che causa l'ostruzione. |
| La sonda reagente non distribuisce il reagente. | Reagente in quantità insufficiente nella fiala. | Quando il sistema rileva una quantità di reagente insufficiente per portare a termine la fase attuale, si ha un minuto di tempo per aggiungere reagente, trascorso il quale, alcuni vetrini potrebbero essere tralasciati. |
| | Sonda reagente intasata. | Rivolgersi a un rappresentante Dako. |
| | Presenza di bolle d'aria sulla superficie del reagente nella fiala. | Espellere le bolle. |

| Problema | Possibile causa | Risoluzione |
|---|---|---|
| La sonda reagente non distribuisce il reagente. (Cont) | La valvola gialla a tre vie sulla siringa è stata spostata. | Verificare che la posizione OFF della valvola sia rivolta verso il basso. La valvola deve essere configurata a “T”. |
| La struttura con la testina a “Z” urta contro i raccoglitori durante il priming o durante il ciclo. | Il braccio non è allineato. | Interrompere il ciclo in emergenza e riavviarlo. Rimuovere le fasi già eseguite. Ricontrollare la Reagent Layout Map (mappa disposizione reagenti), perché questa può causare l’assegnazione delle fiale a nuovi posti. |
| | La testina di soffio/lavaggio è piegata. | Rivolgersi a un rappresentante Dako. |
| La sonda e la testina di lavaggio/soffio non vanno alle localizzazioni corrette. | Il braccio è andato fuori calibrazione. | Interrompere il ciclo e salvare il diario del ciclo. Riprogrammare il ciclo ed eliminare, dalla schermata Protocol Design, le fasi già completate. Riavviare il ciclo. |
| | Punta della sonda piegata. | Verificare che tutti i tappi delle fiale di reagente siano stati rimossi e che i raccoglitori siano saldamente bloccati nella loro posizione. Rivolgersi a un rappresentante Dako. |
| Assenza di colorazione | Reagente in quantità insufficiente nella fiala. | Quando il sistema rileva una quantità di reagente insufficiente per portare a termine la fase attuale, si ha un minuto di tempo per aggiungere reagente, trascorso il quale, alcuni vetrini potrebbero essere tralasciati. |
| | Le fiale con i reagenti non sono state caricate in posizione corretta nei raccoglitori. | Controllare la Reagent Map e verificare la posizione corretta. Controllare su Run Log (diario ciclo) la presenza del messaggio vetrini tralasciati “Impossibile localizzare il reagente” (“Unable to Locate Reagent”). |

| Problema | Possibile causa | Risoluzione |
|---|---|---|
| Assenza di colorazione (Cont) | I vetrini non sono stati caricati in posizione corretta. | Controllare la stampa Load Slide (carica vetrini) e verificare il corretto posizionamento. |
| | I vetrini sono stati caricati con il campione biologico rivolto verso il basso. | Orientare adeguatamente i vetrini. |
| | Errore di programmazione. | Controllare la Programming Grid (griglia di programmazione) per assicurarsi che il ciclo di colorazione sia stato programmato correttamente. |
| Assenza di colorazione. (Cont) | I vetrini si asciugano. | Accertarsi che sia programmato un adeguato volume di distribuzione, necessario per i tempi d'incubazione desiderati. Assicurarsi dell'assenza di condizioni ambientali che favoriscano l'asciugatura dei vetrini (cioè luce solare diretta, riscaldamento/aria condizionata, aspirazioni ecc.) |
| Il testo dell'etichetta non è lungo il margine sinistro dell'etichetta e risulta tagliato. | La stampante Seymour deve essere reimpostata. | Per reimpostare la stampante di etichette Seymour, spegnere la stampante. Tenere premuto il pulsante verde di avanzamento etichette, in alto sulla stampante. Riaccendere la stampante, tenendo premuto il pulsante verde e continuando a tenerlo premuto per tre secondi. Le etichette si portano in avanti e la stampante è pronta per stampare. Rilasciare il pulsante di avanzamento. Per far avanzare un'etichetta, premere e rilasciare di nuovo il pulsante di avanzamento. Eseguire una prova di stampa. |
| Compare un errore durante la stampa | Etichette o nastro esauriti. | Sostituendo il nastro nella stampante, questa riprenderà a funzionare. |

| Problema | Possibile causa | Risoluzione |
|---|---|---|
| | Selezionata porta COM non corretta. | Selezionare la porta COM corretta, dalla schermata Slide Label Design (crea etichetta del vetrino), vedere la sezione Inizializzazione. |
| | Selezionata stampante non corretta. | Selezionare la stampante corretta, dalla schermata Slide Label Design (crea etichetta del vetrino), vedere la sezione Inizializzazione. |
| Il numero del vetrino non è elencato sull'etichetta. | L'etichetta non è centrata correttamente. | Se necessario, ristampare l'etichetta ed applicarla 1/2 cm dal bordo superiore e 1/8 cm dal bordo laterale del vetrino. |
| Le funzioni del computer si bloccano durante un ciclo, mentre l'Autostainer lo sta ancora eseguendo. | Errore di Windows. | Lasciare che l'Autostainer termini il ciclo. Riavviare il sistema, prima del ciclo successivo. |
| L'utente non è in grado di accedere a molte funzioni della sezione "Inizializza" del programma. | L'utente è stato impostato come utente "Non-Authorized" (non autorizzato). | Rivolgersi a un rappresentante Dako. |
| Errori di eccezione illegali o fatali. | Errore di Windows. | Arrestare il sistema e spegne il limitatore di sovratensione. Attendere 30 secondi e poi riaccendere il sistema. Se il problema persiste, rivolgersi a un rappresentante Dako. |
| Messaggi EWP/DWP sul Run Log (diario del ciclo). | Attivare pompa rifiuti/disattivare pompa rifiuti. | I rifiuti non vengono pompati fuori dal sistema entro l'arco di tempo atteso. Se i rifiuti vengono ancora separati, rivolgersi al Servizio tecnico Dako per ulteriori informazioni sulla pulizia. Se i rifiuti non vengono più separati, rivolgersi a Dako per l'assistenza. |

| Problema | Possibile causa | Risoluzione |
|---|---|---|
| Messaggi EWL/PFR sul Run Log (diario del ciclo). | Rimozione dei rifiuti difettosa/sonda non si ritira. | Rivolgersi a un rappresentante Dako. |
| Il computer si accende, ma viene visualizzato “Safe Mode” (modalità protetta) su tutti e quattro gli angoli della schermata. | Il computer è stato arrestato impropriamente. | Arrestare il computer, usando il pulsante **Start** (avvio) di Windows, situato nell’angolo in basso a sinistra della schermata, e selezionando Shut Down (arresta). Questo pulsante potrebbe essere nascosto, per cui bisogna spostare il puntatore del mouse in basso sulla schermata, per farlo riapparire. Arrestare il computer usando sempre questo metodo. Eseguire Scan Disk attraverso Esplora risorse/Accessori/Strumenti di sistema/Scan Disk. Per l’assistenza, rivolgersi a un rappresentante Dako. |
| Il monitor appare vuoto (LED alimentazione è verde). | Installata utilità salvaschermo. | Muovere il mouse. Apparirà la schermata attuale. Rimuovere il salvaschermo, perché questo potrebbe interferire con il funzionamento di Autostainer. |
| Il monitor appare vuoto (LED alimentazione è arancione). | Il cavo di connessione tra schermo e computer non è inserito adeguatamente. | Staccare e riconnettere il cavo tra schermo e computer. |
| Le parole che appaiono sullo schermo sono offuscate. | Il controllo di luminosità non è impostato correttamente. | Regolare il controllo di luminosità. |
| L’immagine sul desktop appare granulosa ed i colori non sono verosimili. | Windows è stato avviato in “Safe Mode” (modalità protetta). | Arrestare il computer, usando il pulsante Start (avvio) di Windows, situato nell’angolo in basso a sinistra della schermata, e selezionando Shut Down (arresta). Questo pulsante potrebbe essere nascosto, per cui bisogna spostare il puntatore del mouse in basso sulla schermata, per farlo riapparire. Arrestare il computer usando sempre questo metodo. Eseguire Scan Disk attraverso Esplora risorse/Accessori/Strumenti di sistema/Scan Disk. Per l’assistenza, rivolgersi a un rappresentante Dako. |
| | La profondità del colore è regolata troppo bassa. | Sul desktop di Windows, fare clic con il tasto destro del mouse su di un punto qualsiasi libero da icone: apparirà un menù a discesa. Selezionare Properties (proprietà). Apparirà la finestra Windows Display Properties (proprietà visualizzazione Windows). Selezionare la scheda Settings (impostazioni). Nella casella Colors (colori), verificare che sia visualizzato “High Color (16 bit)”. In caso contrario, selezionare quest’elemento e salvare le modifiche. |
| La stampante non risponde al comando di stampa. | La stampante può essere in modalità di avanzamento manuale. | Premere brevemente e rilasciare il pulsante sul lato frontale della stampante. |

| Problema | Possibile causa | Risoluzione |
| --- | --- | --- |
| La stampante non risponde al comando di stampa. (Cont) | Il cavo parallelo di connessione tra stampante e computer non è inserito adeguatamente. | Staccare e riconnettere il cavo parallelo tra stampante e computer. |
| | Il cavo parallelo è difettoso. | Provare il cavo su di un altro sistema che funzioni sicuramente, oppure sostituire il cavo parallelo. |

# Sezione 12

# Caratteristiche del sistema

## Caratteristiche di hardware (Hardware Specifications)

**Dako Autostainer**

| | |
|---|---|
| Dimensioni | 1,02 m (L) x 0,69m (P) x 0,61m (H) |
| Peso | 140 lb. (63.5 kg) |
| Requisiti elettrici | 120 V 110/120 V (±10%) 60 Hz (±2 Hz)<br>220 V 220/240 V (±10%) 50 Hz (±2 Hz) |
| Temperatura normale funzione | 18 °C – 26 °C |
| Capacità raccoglitore vetrini | 1 – 12 vetrini |
| Capacità vetrini totale | 1 – 48 vetrini |
| Capacità reagente | 64 reagenti differenti (15 mL/fiala reagente) |
| Volumi distribuzione reagente | 100, 150, 200, 400 e 600 µL |
| Capacità volumetrica sonda reagente | 100 µL minimo, 1200 µL massimo |

**Controllo computer**

Dako si riserva la facoltà di cambiare in qualsiasi momento le caratteristiche di controllo computer. Le caratteristiche del computer possono subire delle variazioni.

| | |
|---|---|
| Schermo | 15", a colori |
| Stampante | A colori, a getto d'inchiostro |
| Limitatore di sovratensione | 120 VCA, 15 Amp, 50/60 Hz |

## Caratteristiche software (Software Specifications)

| | |
|---|---|
| Sistema operativo | Windows® 98, XP o equivalente. |
| Logica operativa | Destinata a calcolare la sequenza più veloce per portare a termine un ciclo di colorazione. |
| Logica protocollo | Selezione flessibile delle fasi, comprese quelle di lavaggio. Massimo 35 fasi di protocollo (comprese quelle di lavaggio). |
| Lavaggio a vuoto | Una soluzione tampone viene applicata ai vetrini durante un ciclo di colorazione, allo scopo di mantenere i vetrini umidi quando non si stanno svolgendo delle reazioni. |
| Impostazioni predefinite di lavaggio | Lavare con tampone 30 minuti prima dell'avvio di ogni ciclo, quando viene selezionato un avvio ritardato.<br>Lavare con tampone ogni 30 minuti durante un ciclo di colorazione.<br>Lavare con acqua ogni 60 minuti dopo completamento di un ciclo.<br><br>Le impostazioni predefinite per il tempo e per la quantità di tampone distribuita possono essere modificate su richiesta da un rappresentante di Dako. |
| Tempo d'incubazione | Il tempo minimo raccomandato è due minuti. |

# Sezione 13

# Configurazione standard

| | |
|---|---|
| **Superficie** | Assicurarsi che l'apparecchio poggi su di una superficie stabile e piana, in grado di reggere il peso del sistema (circa 110 kg) |
| **Misure** | Dimensioni minime dell'area di lavoro: 2,0 m (L) x 0,8 m (P) x 1,0 m (H) |
| **Condizioni ambientali** | L'area di lavoro deve avere una temperatura ambiente di 18 °C – 26 °C, non deve essere esposta alla luce solare diretta, né a ventilazione/aspirazione. |
| **Sorgente elettrica** | Dako raccomanda di utilizzare una sorgente elettrica separata, allo scopo di evitare interferenze con altri apparecchi o sistemi. |

**Raccoglitore vetrini**